

Helyzetkép a citosztatikum-farmakogenetikai kutatásokról és munkacsoportunk vizsgálati eredményeinek ismertetése

Dr. Erdélyi Dániel

SE II. Gyermekgyógyászati Klinika

Az „onkogenetika” kifejezésről a legtöbb orvos a daganatsejtek genetikájával foglalkozó tudományra asszociál, pedig emellett a rosszindulatú daganatos beteg ember genetikai jellemzői is igen fontosak, intenzív kutatás tárgyát képezik. Az előbbi témát (tumorgenetika) csak röviden tekintjük most át, az előadás nagyobb részt a beteg egészséges sejtjeinek génállományáról szól majd.

Tumorgenetika

Elsősorban a következő klinikai kérdések körül folynak kutatások, ill. vannak eredmények:

- A daganatképződés genetikája: pl. Philadelphia-chromosoma
- Genetikai prognosztikai faktorok: pl. n-myc amplifikáció neuroblastomában
- A citosztatikum-rezisztencia genetikája: pl. p53 mutációk, MDR1 (p-glycoprotein, ABCB1) expresszió

Ugyanazok a gének több szempontból vizsgálhatók:

- DNS: pl. kromoszóma-aberráció, aneuploidia, génmutáció, génamplifikáció, heterozygotia elvesztése (LOH)
- Expressziós genetika: génmetiláció, mRNS. Az egyik legnagyobb újdonság a daganatok expressziós mintázat (többszer, többtízezer gén vizsgálata expressziós génlapkákon) alapján történő szubklasszifikációja, prognózis-meghatározása.
- Proteomika, funkció: pl. immunfenotipizálás ALL-ben, MDR1 AML-ben (calcein efflux). Hamarosan széles körben elérhetőek lesznek a protein-chipek is.

Alkati (genetikai) tényezők az onkológiában

- Daganatképződés: pl. szülői dohányzás + gyermek CYP1A1*2A → gyermekkori ALL esélye
- Prognosztikai faktorok: pl. rassz és nem gyermekkori ALL-ben
- Terápiás hatás és mellékhatások genetikája: erről lesz szó a továbbiakban

Elsősorban genetikai (DNS) vizsgálatok folynak ezen a területen, vagyis génpolimorfizmusok vizsgálata.

Génpolimorfizmus – mit is jelent ez?

Formái:

- génmultiplikáció
- nagyobb génszakaszt érintő deléció, inzerció, inverzió
- tandem ismétlődések (VNTR)
- egy nukleotid cseréje (SNP)

SNP-k gyakorisága: 1:300 nukleotid

Mutáció: betegséget okoz; gyakorisága < 1%

Polimorfizmus: nem köthető betegséghez; gyakorisága > 1%

„Germline” génpolimorfizmus = „csíravonal-” polimorfizmus: már a zigótában jelen voltak az allélok, a test minden sejtében ugyanaz a két allél található.

A génpolimorfizmusok fiziológiai jelentősége:

génpolimorfizmus → a kódolt fehérje mennyisége vagy minősége változhat →

biokémiai polimorfizmus → polimorf fenotípus

Két egészséges ember (strukturális genetikai szinten) csak a polimorfizmusokban különbözik egymástól!

A génpolimorfizmusok orvosi jelentősége:

- poligénes betegségek – igen intenzíven, és eredménnyel kutatott terület
- monogénes betegségek (módosító faktorai)
- farmakogenetika

Germline génpolimorfizmusok az onkológiában

A kutatások jelenlegi fő célpontjai

- transzporterek:
 - gyógyszer-felszívódás
 - gyógyszer-ürülés
- gyógyszer-metabolizáló enzimek
- gyógyszer-target fehérjék
- DNS-repair enzimek
- szabadgyök-védelem enzimek

A 6-mercaptopurin (6-MP) és a tiopurin-S-metiltranszferáz enzim (TPMT: a 6-MP-t és aktív metabolitjait bontja) példája:

- Időnként észlelt súlyos myelotoxicitás
- 1980: VVT tiopurin-S-metiltranszferáz (TPMT) enzimaktivitás eltérései, örökletessége, rizikófaktor 10% heterozigóta, 1:300 homozigóta inaktív
- 1995-: több inaktív allél, enzimaktivitással korreláció. Prognosztikus: 1.: myelotoxicitás; 2.: gyermekkori ALL halálozása; 3.: másodlagos tumor kialakulása
- 2002: klinikai tanulmány gyermekkori ALL-ben a 6-MP dózis módosításával: heterozygoták 85%, két deficiens allél: 5-10%; így a toxicitás mértéke és a recidiva-arány azonos.

Farmakogenomika

- „Genomika”: sok gén együttes vizsgálata, mintázatok értelmezése.
- Minden gyógyszer hatása, mellékhatásai esetén sok gén, génenként sok polimorfizmus (ill. haplotípus!) befolyása valószínű. Ezek egymással való kapcsolata szintén sokféle lehet.
- Sok kezelési protokoll, sok klinikai kérdés vethető fel

Mindezek megismeréséhez, a multifaktoriális elemzéshez nagy mintaszámú tanulmányok kellene, párhuzamosan több központban.

Farmakogenomika a jövőben:

- Individualizált kezelés: gyógyszerkönyvi noraminophenazon-dózis: $k \times 10 \text{ mg/kg}$, ahol a „k” változó különböző értékeket vehet fel a génpolimorfizmusoktól függően
- Nagy vizsgálati panelek gyógyszerenként és betegségenként; számítógépes algoritmusok dózisszámításhoz, elektronikus TB-kártya
- Az onkológiai betegségek gyógyulási aránya jelentősen növekedni fog, a kezelés mellékhatásai ritkulnak, enyhülnek majd várhatóan.
- Költséghatékonyság: ma nagy mintaszám esetén 50 Ft/SNP/minta

MUNKACSOPORTUNK VIZSGÁLATAI:

MDR1 és kemoterápiás toxicitás

Bevezető:

Az MDR1 onkológiai gyakorlatban fontos szubsztrátjai:

	Sub-strat	Inhi-bitor	In-duk-tor		Sub-strat	Inhi-bitor	In-duk-tor
Actinomycine-D	X			Cyclosporine	X	X	
DNR, DOX	X			Dexamethasone	X		X
Doce-, Paclitaxel	X			Erythromycin	X	X	
Etoposide	X			Ketokonazole		X	
Imatinib	X			Morphine	X		X
Irino-, Topotecan	X			Ondansetron	X		
Mitoxatntrone	X			Phenitoin	X		
Mitomycin C	X			Ranitidine	X		
VBL, VCR	X			Retinsav			X

Az MDR1 a farmakokinetika stratégiai pontjain expresszáldódik: bél-nyálkahártya, máj epekanalikusai, vesetubulusok, vér-agy gát.

Miért bonyolultak, ellentmondóak a kutatási eredmények?

- Csak kb. kétszeres expresszióbeli különbséget okoznak a polimorfizmusok (irodalmi adat, bélnyálkahártyán)
- A vizsgálatok különböznek
 - vizsgált gyógyszer tekintetében
 - vizsgált szövet tekintetében
 - a szérumszint több hatás eredménye
 - klinikai kérdés tekintetében
 - beteganyag tekintetében – nemzetiség, haplotípus
- Publikációs nyomás

MDR1 genotípus és terápiás válasz akut leukémiákban

- 33 ALL-es gyermek meningeális recidivával + kontroll 33 gyógyult ALL-es gyermek (Stanulla et al., 2001): 3435CC esetén 7-szeres meningeális recidiva rizikó
- 405 AML-es felnőtt beteg (Illmer et al., 2002): 3435CC, 2677GG, 1236CC genotípusoknál egyaránt
- rosszabb túlélés, gyakoribb relapsus
- 113 ALL-es gyermek (Jamroziak et al., 2003): 3435CC esetén rosszabb eseménymentes túlélés
- 53 ALL-es felnőtt (Efferth et al., 2003): nincs szignifikáns különbség a túlélésben a C3435T genotípus alapján

Beteganyag:

Génbank: 351 ALL-es és 57 osteosarcomás gyermek, perifériás vérből szeparált DNS. Jelen vizsgálatok: összesen 110 ALL-es és osteosarcomás gyermek kezelésvégi balkamra-funkciós értékei; 69 ALL-es gyermek májfunkciós értékei az indukciós fázis alatt.

Módszerek:

Multiplex miniszekvenálás:

Eredmények:

Az MDR1 három vizsgált polimorfizmusa valószínűleg nem befolyásolja jelentősen a kezelés alatti hepatotoxicitás és a késői balkamra funkciós értékek alakulását az ALL és az OSC betegekben.

Munkatársak:

SE II. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, igazgató: Prof. Fekete György
hemato-onkológiai munkacsoport: Dr. Kovács Gábor, Dr. Müller Judit
SE Genetikai, Sejt- és Immunbiológiai Intézet, igazgató: Prof. Falus András
munkacsoportok: Dr. Pállinger Éva, Dr. Szalai Csaba
Genodia Molekuláris Diagnosztika Kft.: Zalka Anna, Kámory Enikő

Köszönetnyilvánítás

MGYT Gyermekonkológiai munkacsoport orvosai, asszisztensei és nővérei, laboratóriumi asszisztensek a kórházakban

Országos Gyermektumor Regiszter: Dr. Borgulya Gábor, Dr. Jakab Zsuzsa
Kardiológusok: Dr. Horváth Zsóka (SE I. Gyermekklinika), Dr. Kiss András (Heim Pál Gyermekkorház), Dr. Szabolcs Judit (SE II. Gyermekklinika)

TDK-s hallgatók: Horváth Éva, Lippai Dóra, Váradi Gábor

Irodalomjegyzék:

1. Evans et al., Pharmacogenetics. 2002;12(6):421-3.
2. Marzolini et al., Clin Pharmacol Ther. 2004;75(1):13-33
3. Kroetz et al., Pharmacogenetics 2003; 13:481-494
4. Marsh et al., British J Cancer 2004; 90:8-11
5. Ulrich et al, Nat Rev Cancer. 2003;3(12):912-20.
6. Yeoh et al., Cancer Cell. 2002;1(2):133-43
7. Evans et al., NEJM 2003; 348(6):538-549